

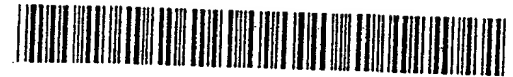
(19)



Europäisches Patentamt

European Patent Office

Office européen des brevets



(11)

EP 0 599 307 B1

(12)

EUROPÄISCHE PATENTSCHRIFT

(45) Veröffentlichungstag und Bekanntmachung des  
Hinweises auf die Patenterteilung:  
26.08.1998 Patentblatt 1998/35

(51) Int. Cl.<sup>6</sup>: A61K 35/78

AB

(21) Anmeldenummer: 93118997.1

(22) Anmeldetag: 25.11.1993

(54) **Johanniskraut-Trockenextrakt, Verfahren zu seiner Herstellung und seine Verwendung**  
St.-John's-wort dry extract, process for its preparation and its use  
Extrait sec de l'herbe de la Saint Jean, procédé de sa préparation et son utilisation

(84) Benannte Vertragsstaaten:  
AT CH DE ES FR GB IT LI NL

(30) Priorität: 27.11.1992 DE 4239959

(43) Veröffentlichungstag der Anmeldung:  
01.06.1994 Patentblatt 1994/22

(73) Patentinhaber:  
Dr. Willmar Schwabe GmbH & Co.  
D-76227 Karlsruhe (DE)

(72) Erfinder:  
• Chatterjee, Shyam Sunder, Dr.  
D-76139 Karlsruhe (DE)  
• Erdelmeier, Clemens, Dr.  
D-76139 Karlsruhe (DE)  
• Stumpf, Heinz, Dr.  
D-76228 Karlsruhe (DE)

(74) Vertreter:  
Bunke, Holger, Dr.rer.nat. Dipl.-Chem.  
Prinz & Partner GbR  
Manzingerweg 7  
81241 München (DE)

(56) Entgegenhaltungen:

DE-A- 1 569 849

DE-A- 3 935 772

*Sfeigerwald*

*Sfeigerwald*

- CHEMICAL ABSTRACTS, Band 107, Nr. 22, 30.  
November 1987, Columbus, Ohio, USA  
STOYANOVA, A. et al. "Thin- layer  
chromatography of extracts of Hypericum  
perforatum"
- CHEMICAL ABSTRACTS, Band 105, Nr. 4, 28.  
Juli 1986, Columbus, Ohio, USA GEORGIEV, E.  
et al.: "Effect of solvent and moisture of St.-  
John's-wort on extraction of some biologically  
active substances. I. Extraction of hypericin with  
glycerides and ethyl alcohol. "
- CHEMICAL ABSTRACTS, Band 105, Nr. 4, 28.  
Juli 1986, Columbus, Ohio, USA GEORGIEV, E.  
et al.: " Effect of solvent and moisture of St.-  
John's-wort on extraction of some biologically  
active substances. II. Extraction of hypericin  
with glycol. "
- CHEMICAL ABSTRACTS, Band 101, Nr. 22, 26.  
November 1984, Columbus, Ohio, USA  
GEORGIEV, E. et al.: "Extraction of Hypericum  
perforatum L. "

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist. (Art. 99(1) Europäisches Patentübereinkommen).

## Beschreibung

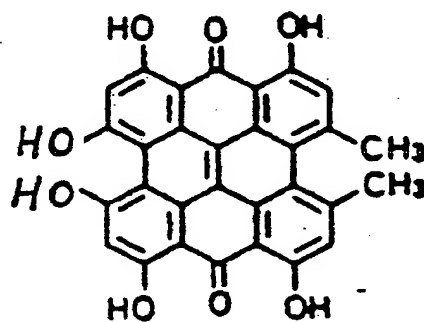
Die Erfindung betrifft einen Trockenextrakt aus dem Kraut von Hypericum perforatum L. (Johanniskraut), in dem die stark photosensibilisierenden Verbindungen des Naphthodianthron-Typs selektiv abgereichert oder ganz eliminiert wurden. Die Erfindung betrifft ferner Verfahren zur Herstellung des Trockenextrakts und seine Verwendung als Arzneimittel.

Johanniskraut wird schon lange als Arzneidroge verwendet. Seit neuerem wird die Droge auch als Sedativum und Anxiolytikum sowie zur Behandlung depressiver Verstimmungen verwendet. Therapeutisch eingesetzt werden in der Regel wäßrig-ethanolische Extrakte aus Johanniskraut und ölige Zubereitungen.

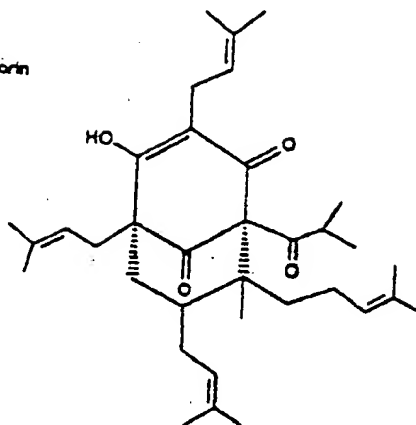
Bisher wurden aus Johanniskraut folgende Inhaltsstoffe bzw. Inhaltsstoffgruppen isoliert: Ätherische Öle (0,1 % - 0,3 %), Catechin-Gerbstoffe (ca. 10 %), Flavone und Xanthone (2 % - 4 %), Naphthodianthrone (Hypericine) (0,1 %) sowie Pflanzensäuren. Darüber hinaus enthalten die Frischpflanze und schnell und schonend getrocknetes Johanniskraut Hyperforin (1,0 - 1,4 %) und in geringerem Maße Adhyperforin. Hyperforin besitzt ausgeprägte antibiotische Eigenschaften und scheint an der sedierenden Wirkung des Johanniskrauts beteiligt zu sein (vgl. P. Maisenbacher, "Untersuchungen zur Analytik von Johanniskrautöl", Dissertation Universität Tübingen 1991). Das Vorkommen von Anthrachinonen im Johanniskraut ist dagegen nicht bewiesen.

Hypericin, Hyperforin und Adhyperforin besitzen die folgenden Strukturformeln:

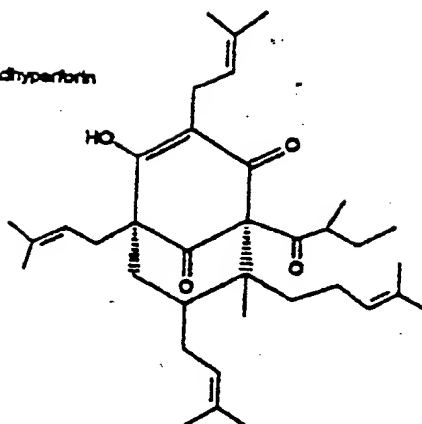
### Hypericin



Hyperforin



Adhyperforin



Das Bundesgesundheitsamt führt eine positive Monographie "Hyperici herba", die neben der Erwähnung der sedativen, anxiolytischen und antidepressiven Indikationen auch ausdrücklich auf die Nebenwirkung der Photosensibilisierung durch Johanniskraut hinweist. Diese ist zwar bisher hauptsächlich für Weidetiere (z.B. Rinder, Schafe, Pferde) beschrieben, wobei die Nebenwirkung nicht selten tödlich verlaufen ist. Einzelne Fälle, allerdings ohne tödlichen Ausgang, wurden auch beim Menschen beschrieben (Hausen, B., Allergiepflanzen - Pflanzenallergene, Handbuch und Atlas der allergieinduzierenden Wild- und Kulturpflanzen, ecomed, Landsberg-München 1988).

Jahrzehntelang wurden Hypericin und seine Derivate als Hauptwirkstoff von *Hypericum perforatum* angesehen. Es wurden daher viele Anstrengungen unternommen, reines Hypericin aus *Hypericum perforatum* herzustellen (C. Czerny, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **73**, 371 (1911)); (H. Brockmann, M.N. Haschad, K. Maier und F. Pohl, Naturwissen-

schaften 27, 550 (1939)); (N. Pace und G. Machinney, J. Am. Chem. Soc. 63, 2570 (1941)). Der Arbeitsgruppe von Brockmann gelang 1950 / 51 der endgültige Strukturbeweis und die Totalsynthese von Hypericin.

Die Herstellung angereicherter Extrakte wurde ebenfalls mit der Zielsetzung betrieben, eine Anreicherung des Hypericins zu erreichen (DE-PS 1 569 849). Niesel und Schilcher beschreiben Methoden zur Anreicherung von Extrakten aus *Hypericum perforatum* mit dem Ziel, zu einem hohen Anteil von Hypericin zu kommen (Arch. Pharm. 323, 755 (1990)).

In Übereinstimmung mit diesen wissenschaftlichen Ergebnissen hat die Kommission E des Bundesgesundheitsamtes eine Monographie erstellt (Bundesanzeiger Nr. 228 vom 05.12.84), in der die Menge an Gesamt-Hypericin (Hypericin und Pseudohypericin), nämlich 0,2 mg bis 1 mg, als Basis für die Ermittlung der Tagesdosis bei Zubereitungen aus *Hypericum* gewählt wird. Dies weicht von vergleichbaren Monographien ab, bei denen in der Regel allein die Menge an Droge Basis für die einzusetzende Menge an Zubereitung ist. Dies zeigt, daß dem Inhaltsstoff Hypericin bei den Anwendungsgebieten psychovegetative Störungen, depressive Verstimmungszustände, Angst und nervöse Unruhe die alleinige Ursache für die Wirksamkeit hypericumhaltiger Zubereitungen zugemessen wurde. Dies wird auch noch in der neueren Literatur bestätigt (R. Hänsel, Phytopharmaka, Springer Verlag S. 260); (S. Niesel, H. Schilcher Arch. Pharm. 323, 755 (1990)); (Literatursammlung *Hypericum perforatum*, M. Wichtl, 1983, S. 8).

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, einen Johanniskraut-Trockenextrakt bereitzustellen, der möglichst wenig Hypericin oder ähnliche photosensibilisierende Verbindungen enthält, aber dennoch die bisher dem Hypericin zugeschriebene Wirksamkeit besitzt, sowie Verfahren zu seiner Herstellung, die möglichst einfach und ohne großen apparativen Aufwand durchführbar sein sollen und mit denen es gelingt, Hypericine sehr stark anzureichern, aber erwünschte Komponenten wie Hyperforin und Adhyperforin, die kein photosensibilisierendes Potential aufweisen, in demselben Extrakt anzureichern.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß durch den Trockenextrakt gemäß einem der Patentansprüche 1 - 4, die Verfahren gemäß den Patentansprüchen 8 - 16 sowie durch die Verwendung des Extrakts als Arzneimittel gelöst.

Der Erfindung liegt die überraschende Erkenntnis zugrunde, daß sich ein hypericinfreier oder hypericinärmer, gleichzeitig an Gesamt-Hyperforin (Hyperforin und Adhyperforin) angereicherter Extrakt aus *Hypericum perforatum* sowohl aus einer alkoholischen Primärextraktlösung durch einfaches Ausrühren mit Polyvinylpyrrolidon oder Aktivkohle als auch säulenchromatographisch ohne besonderen Trennaufwand herstellen läßt, wenn ein Dioxan-Wasser-Gemisch als Eluens verwendet wird.

Die erfindungsgemäß hergestellten Extrakte und die daraus gewonnenen pharmazeutischen Zubereitungen haben den großen Vorteil, frei von den für Hypericin beschriebenen Nebenwirkungen zu sein, gleichzeitig aber die bisher offenbar irrtümlich dem Hypericin zugeschriebene volle Wirksamkeit als Psychovegetativa und Antidepressiva zu besitzen.

Während handelsübliche Präparate Extrakte mit einem Gehalt von 0,12 % - 0,64 % Gesamthypericin (Angaben entsprechend Roter Liste 1992) enthalten, sind bevorzugte Ausführungsformen des erfindungsgemäßen Trockenextraktes durch einen Gesamthypericingehalt von weniger als 0,1 Gew.-%, besonders bevorzugt von weniger als 0,03 Gew.-% oder von Null, sowie durch einen erhöhten Gesamt-Hyperforingehalt, welcher je nach Ausgangsdroge mindestens 5, vorzugsweise mindestens 10 Gew.-% beträgt, gekennzeichnet.

Der erfindungsgemäße Trockenextrakt wird vorzugsweise zur Herstellung psychovegetativ und antidepressiv wirksamer Arzneimittel verwendet, die sowohl in der Human- als auch in der Veterinärmedizin eingesetzt werden können. Gegenstand der Erfindung sind somit auch psychovegetativ und antidepressiv wirksame Arzneimittel, die einen erfindungsgemäßen Trockenextrakt enthalten, gegebenenfalls zusammen mit üblichen, pharmakologisch verträglichen Hilfs- und Zusatzstoffen. Diese Arzneimittel können in Form von Tabletten, Dragees, Hart- und Weichgelatine-Kapseln, in gelöster Form als Tropfen etc. vorliegen.

Überraschenderweise wurde festgestellt, daß erfindungsgemäße Extrakte, in denen Hyperforin und Adhyperforin besonders hoch angereichert waren, eine stark serotonin-antagonistische Wirksamkeit aufweisen. Erfindungsgemäße Extrakte mit hohem Gesamt-Hyperforingehalt werden deshalb mit besonderem Vorteil als Arzneimittel mit serotonin-antagonistischer Wirksamkeit verwendet, gegebenenfalls zusammen mit üblichen, pharmakologisch verträglichen Hilfs- und Zusatzstoffen.

Bei einer bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens zur Herstellung des Trockenextraktes wird ein alkoholischer oder wäßrig-alkoholischer Gesamtextrakt (Primärextrakt) von einer frischen oder schonend getrockneten Johanniskraut-Droge direkt nach dem Abfiltrieren des Drogenrückstands ohne Zwischentrocknung mit Polyvinylpyrrolidon (PVP) oder Aktivkohle versetzt, ausgerührt und anschließend durch Filtration von PVP oder Aktivkohle abgetrennt und getrocknet. Es hat sich dabei überraschenderweise gezeigt, daß die Hypericine sehr stark an PVP oder Aktivkohle adsorbiert werden. Vorzugsweise setzt man dem flüssigen Primärextrakt 30 bis 200 % PVP oder 5 bis 50 % Aktivkohle zu, jeweils bezogen auf die Masse des Trockenextrakts.

Bei einer anderen bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens zur Herstellung des Trockenextrakts wird ein wäßrig-ethanolischer Gesamtextrakt (Primärextrakt) von Johanniskraut-Droge in einem Dioxan-Wasser-Gemisch, vorzugsweise im Volumverhältnis 7 : 3, gelöst und über handelsüblichen Polysaccharid als

Trägermaterial, z.B. über Sephadex -LH-20, gelchromatographisch fraktioniert. Es hat sich überraschenderweise gezeigt, daß die Hypericine bei Verwendung von Dioxan-Wasser als Eluens, vorzugsweise ebenfalls im Volumenverhältnis 7 : 3, als letzte Substanzen von der Säule eluieren. Das Eluat wird unfractioniert aufgefangen bis zur beginnenden Elution der violett bis blutrote Zonen. Diese Naphthodianthron-Fraktion wird getrennt aufgefangen und verworfen, während das zuvor aufgefangene Eluat zur Trockne eingeeengt und gegebenenfalls nachgetrocknet wird.

Bei einer weiteren bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens wird ein wäßrig-ethanolischer Gesamtextrakt von Johanniskraut zunächst zwischen n-Butanol und Wasser verteilt. Die n-Butanolphase wird zur Trockne eingeeengt und enthält 35 % - 40 % des eingesetzten Gesamtexttraktes. Die Wasserphase enthält 60 % - 65 % des eingesetzten Gesamtexttraktes mit folgenden Gehalten:

|             |                   |
|-------------|-------------------|
| 0,5 % - 1 % | Hyperosid         |
| < 0,01 %    | Quercetin         |
| < 0,01 %    | 13,118 Biapigenin |
| < 0,01 %    | Amentoflavon      |
| < 0,02 %    | Hypericin         |
| < 0,02 %    | Pseudohypericin   |

Die getrocknete n-Butanolphase wird dann gelchromatographisch weiterfraktioniert, wie oben beschrieben.

Bei allen erfindungsgemäßen Verfahrensvarianten wird der Primärextrakt vorzugsweise durch Extraktion der Droge mit 50 bis 96 %igem (Gew.-%) Ethanol gewonnen.

#### Beispiel 1

1 kg schonend getrocknetes und grob gepulvertes Johanniskraut werden mit 7 kg 96 %igem Ethanol versetzt und eine Stunde bei 55°C intensiv gerührt. Anschließend wird über ein Filter abgesaugt und der Drogenrückstand in der gleichen Weise noch ein zweites Mal extrahiert. Die beiden Extraktlösungen werden vereinigt, und mit einem aliquot wird der Trockenrückstand bestimmt. Es ergibt sich ein Trockenrückstand von 23 %, entsprechend einer Ausbeute von 231 g Trockenextrakt aus 1 kg Droge. Der Gesamt-Hypericingehalt in diesem Extrakt beträgt 0,41 %, der Hyperforingehalt 6,3 %. Es werden der Extraktlösung dann 115 g Polyvinylpyrrolidon (PVP : Trockenextrakt = 1:2) zugegeben, und bei Raumtemperatur wird eine Stunde lang gerührt. Danach wird über ein Filter abgesaugt und die erhaltene Extraktlösung bei 55°C unter vermindertem Druck zur Trockne eingeeengt. Es wird anschließend bei 45°C im Vakuum nachgetrocknet. Es resultieren 189 g Trockenextrakt. In diesem Extrakt liegt der Gesamt-Hypericingehalt unter 0,015 %, der Gesamt-Hyperforingehalt bei 8,7 %.

#### Beispiel 2

1 kg schonend getrocknetes und grob gepulvertes Johanniskraut werden mit 7 kg 60 %igem Ethanol versetzt und 1 Stunde bei 55°C intensiv gerührt. Anschließend wird über ein Filter abgesaugt und der Drogenrückstand in der gleichen Weise noch ein zweites Mal extrahiert. Die beiden Extraktlösungen werden vereinigt, und mit einem aliquot wird der Trockenrückstand bestimmt. Es ergibt sich ein Trockenrückstand von 35 %, entsprechend einer Ausbeute von 355 g Trockenextrakt aus 1 kg Droge, mit einem Gesamthypericingehalt von 0,13 %. Der Extraktlösung werden 35 g Aktivkohle zugegeben, und während einer Stunde wird bei Raumtemperatur gerührt. Es wird wiederum filtriert und die Lösung in der gleichen Weise, wie in Beispiel 1 beschrieben, zur Trockne gebracht. Es ergeben sich 337 g Trockenextrakt mit einem Gesamthypericingehalt unter 0,015 %.

#### Beispiel 3

2 kg schonend getrocknetes und gepulvertes Johanniskraut werden mit 20 kg 60 %igem (Gew.-%) Ethanol versetzt und eine Stunde bei 60°C intensiv gerührt. Anschließend wird über einen Filter abgesaugt und der Drogenrückstand nochmals in der gleichen Weise behandelt. Die beiden Extrakte werden vereinigt und unter vermindertem Druck bei 60°C zur Trockne eingeeengt. Anschließend wird bei 45°C nachgetrocknet. Es resultieren 732,4 g Trockenextrakt.

Ein Gewichtsteil dieses Trockenextraktes wird in vier Volumenteilen Dioxan-Wasser 7:3 (Vol./Vol.) unter leichter Erwärmung gelöst. Diese Lösung wird auf eine mit Sephadex LH-20 beschickte und mit Dioxan-Wasser 7:3 (Vol./Vol.) Chromatographiesäule aufgetragen. Das Verhältnis von Ausgangsextrakt zu Trägermaterial beträgt dabei 1:13. Das Elutionsmittel ist Dioxan-Wasser 7:3 (Vol./Vol.). Es wird eluiert und unfractioniert aufgefangen, bis Zonen von der Säule eluieren, die sich nach Auftrennung im Dünnschichtchromatogramm mit Flavognost-Reagens am Tageslicht blau oder grün färben (Hypericin-Derivate). Letzterwähnte Zonen werden getrennt aufgefangen. Es werden so zwei Fraktionen erhalten: Fraktion 1, 97,2 % des eingesetzten Extraktes, und Fraktion 2, 0,5 % des eingesetzten Extraktes. Wäh-

rend Fraktion 2, die die Hypericin-Derivate enthält, verworfen wird, wird die hypericinarme oder auch hypericinfreie Fraktion 1 zur Trockne eingeengt und gegebenenfalls nachgetrocknet. Die so erhaltene Trockensubstanz stellt den erfindungsgemäßen Trockenextrakt mit vermindertem Gesamt-Hypericingehalt dar.

Die Wirkung eines handelsüblichen Extraktes mit einem Gesamt-Hypericin-Gehalt von 0,17 % (Extrakt A) wurde mit dem gemäß Beispiel 1 hergestellten, hypericinarmen Extrakt (Extrakt B) verglichen. Dieser enthält Gesamt-Hypericin in einer Menge, die bei der analytischen Nachweisgrenze lag, nämlich unter 0,015 Gew.-%.

Zum Nachweis der Wirksamkeit des erfindungsgemäß hergestellten Extrakts wurde dessen Serotonin-Rezeptor-antagonistische Wirkung geprüft, und zwar am Modell des 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptors.

Das Vorhandensein und die physiologische sowie die pathologische Bedeutung solcher Serotonin-Rezeptoren wurde erstmals 1985 von Richardson et al. (Nature; Vol. 316; 126-131) postuliert und seitdem wurden zahlreiche 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptorantagonisten entwickelt wie z.B. ICS 205-930, MDL 72222, Odansetron, GR 65 630, Granisetron u.a.. Solche 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptorantagonisten zeigen unter anderem auch die für die Johanniskraut-Präparate bekannten Wirkungen gegen psychovegetative Störungen, depressive Verstimmungszustände, Angst und nervöse Unruhe etc.. Es liegt deshalb nahe, daß zusätzlich zu den bekannten Monoaminoxidase-hemmenden Wirkungen auch die antagonistische Wirkung der Johanniskrautinhaltstoffe gegen 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptor-vermittelte Prozesse für die Wirksamkeit der Extrakte dieser Arzneipflanze verantwortlich ist.

Männliche Mäuse (NMRI) mit Körpergewicht zwischen 20 und 30 g dienten als Versuchstiere. Angewendet wurde eine von Saxena R.R. und Lawang A. (Arch. Int. Pharmacodyn.; 277; 235-252, 1985) beschriebene Methode. Bestimmt wurde der Einfluß eines bekannten HT<sub>3</sub>-Rezeptorantagonisten (Cisapride) und der Extrakte A und B auf die durch Serotonin (0,25 mg/kg i.v.) induzierten Bradykardien in narkotisierten Tieren. Die Prübsubstanzen wurden immer 30 min. vor der Serotoningabe i.p. appliziert.

Die erhaltenen Versuchsergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefaßt:

| Prübsubstanz                        | Dosis | % Hemmung der Serotonininduzierten Bradykardien |
|-------------------------------------|-------|---|
| Extrakt A (handelsüblicher Extrakt) | 500   | 61  |
|                                     | 300   | 10  |
| Extrakt B (gemäß Beispiel 1)        | 500   | 81  |
|                                     | 100   | 70  |
|                                     | 30    | 0   |
| Cisapride (Vergleich)               | 5     | 80  |

Die Untersuchungsergebnisse zeigen, daß der erfindungsgemäß hergestellte Extrakt nicht nur hypericinarm ist und 5-HT<sub>3</sub>-antagonistische Wirkungen besitzt, sondern auch in den Aktivkomponenten der Arzneipflanze (z.B. Hyperforin) angereichert ist, die für die 5-HT<sub>3</sub>-rezeptorantagonistische Wirkung verantwortlich sind. Obwohl der Vergleichsextrakt A mehr als die 10fache Menge an Hypericin enthält, ist seine Wirkungsstärke mindestens 5mal schwächer als diejenige des erfindungsgemäß hergestellten Extrakts B.

Die Befunde, daß die Johanniskrautinhaltstoffe die 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptorfunktionen antagonisieren, eröffnen eine Reihe von neuen therapeutischen Anwendungen der Zubereitungen dieser Arzneipflanze für die Therapie verschiedener Erkrankungen, die nicht unbedingt mit depressiven Verstimmungszuständen etc. einhergehen. Solche Erkrankungen sind u.a. Migräne, Erbrechen und andere gastrointestinale Störungen.

#### Patentansprüche

1. Trockenextrakt aus dem Kraut von Hypericum perforatum L. (Johanniskraut), gekennzeichnet durch einen gegenüber dem Gesamt-Hypericingehalt der als Ausgangsmaterial eingesetzten Droge verminderten Gesamt-Hypericingehalt von weniger als 0,1 Gew.-% und durch einen gegenüber dem Gesamt-Hyperforingehalt der als Ausgangsmaterial eingesetzten Droge erhöhten Gesamt-Hyperforingehalt von mindestens 5 Gew.-%.
2. Trockenextrakt nach Anspruch 1, gekennzeichnet durch einen Gesamt-Hypericingehalt von weniger als 0,03 Gew.-%.

3. Trockenextrakt nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß er hypericinfrei ist.
4. Trockenextrakt nach einem der Ansprüche 1 bis 3, gekennzeichnet durch einen Gesamt-Hyperforingehalt von mindestens 10 Gew.-%.
5. Psychovegetativ und antidepressiv wirksames Arzneimittel, enthaltend einen Trockenextrakt gemäß einem der Ansprüche 1 bis 4, gegebenenfalls zusammen mit üblichen, pharmakologisch verträglichen Hilfs- und Zusatzstoffen.
- 10 6. Verwendung des Trockenextrakts gemäß einem der Ansprüche 1 bis 4 zur Herstellung psychovegetativ und antidepressiv wirksamer Arzneimittel.
7. Verwendung des Trockenextrakts gemäß einem der Ansprüche 1 bis 4, gegebenenfalls zusammen mit üblichen, pharmakologisch verträglichen Hilfs- und Zusatzstoffen, zur Herstellung eines Arzneimittels mit Serotonin-antagonistischer Wirksamkeit.
- 15 8. Verfahren zur Herstellung eines Trockenextrakts aus dem Kraut von Hypericum perforatum L., bei dem eine frische oder schonend getrocknete Johanniskrautdroge mit wäßrigem Ethanol extrahiert wird und aus dem so erhaltenen Flüssigextrakt in an sich bekannter Weise ein Trockenextrakt gewonnen wird, dadurch gekennzeichnet, daß dem Flüssigextrakt Polyvinylpyrrolidon oder Aktivkohle zugesetzt und gerührt wird, anschließend filtriert wird und die erhaltene Lösung zur Trockne eingeeengt und gegebenenfalls nachgetrocknet wird.
- 20 9. Verfahren nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß dem Flüssigextrakt 30 bis 200 % Polyvinylpyrrolidon, bezogen auf die Masse des Trockenextrakts, zugesetzt werden.
- 25 10. Verfahren nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß dem Flüssigextrakt 5 bis 50 % Aktivkohle, bezogen auf die Masse des Trockenextrakts, zugesetzt werden.
- 30 11. Verfahren zur Herstellung eines Trockenextrakts aus dem Kraut von Hypericum perforatum L., bei dem eine frische oder schonend getrocknete Johanniskraut-Droge mit wäßrigem Ethanol extrahiert und der erhaltene Flüssigextrakt (Primärextrakt) durch Abziehen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck zur Trockne eingeeengt wird, dadurch gekennzeichnet, daß der Primärextrakt in einem Dioxan-Wasser-Gemisch gelöst und die so erhaltene Lösung säulenchromatographisch unter Verwendung von Dioxan/Wasser als Eluens in zwei Fraktionen aufgetrennt wird, wonach die zuerst aufgefangene Fraktion, die einen verminderten Gesamt-Hypericingehalt aufweist, zur Trockne eingeeengt und gegebenenfalls nachgetrocknet wird.
- 35 12. Verfahren nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß der Primärextrakt in einem Gemisch aus 7 Volumteilen Dioxan und 3 Volumteilen Wasser gelöst wird.
- 40 13. Verfahren nach Anspruch 11 oder 12, dadurch gekennzeichnet, daß als Eluens für die säulenchromatographische Trennung ein Gemisch aus 7 Volumteilen Dioxan und 3 Volumteilen Wasser verwendet wird.
- 45 14. Verfahren nach einem der Ansprüche 11 bis 13, dadurch gekennzeichnet, daß die säulenchromatographische Trennung als Gelchromatographie durchgeführt wird.
- 50 15. Verfahren zur Herstellung eines Trockenextrakts aus dem Kraut von Hypericum perforatum L., bei dem eine frische oder schonend getrocknete Johanniskraut-Droge mit wäßrigem Ethanol extrahiert wird, dadurch gekennzeichnet, daß der so erhaltene Flüssigextrakt (Primärextrakt) zwischen n-Butanol und Wasser verteilt wird, sodann die n-Butanol-Phase zur Trockne eingeeengt und anschließend gelchromatographisch fraktioniert wird.
16. Verfahren nach einem der Ansprüche 8 bis 15, dadurch gekennzeichnet, daß die Droge mit 50 bis 96 Gew.-%igem Ethanol extrahiert wird.

#### Claims

1. A dry extract from the leaves of hypericum perforatum L. (St. John's wort), characterized by a total content of hypericin of less than 0.1% by weight, being reduced as compared with the total content of hypericin of the drug used as a starting material, and a total content of hyperforin of at least 5% by weight, being increased as compared with the

total content of hyperforin of the drug used as the starting material.

2. The dry extract of claim 1, characterized by a total content of hypericin of less than 0.03% by weight.
- 5 3. The dry extract of claim 2, characterized by being free of hypericin.
4. The dry extract of any one of claims 1 to 3, characterized by a total content of hyperforin of at least 10% by weight.
- 10 5. A pharmaceutical composition being psychovegetatively and antidepressively effective containing a dry extract according to any one of claims 1 to 4, optionally together with conventional, pharmacologically acceptable auxiliary agents and additives.
6. Use of the dry extract of any one of claims 1 to 4 for the manufacture of psychovegetatively and antidepressively effective pharmaceutical compositions.
- 15 7. Use of the dry extract of any one of claims 1 to 4, optionally together with conventional, pharmacologically acceptable auxiliary agents and additives, for the manufacture of a pharmaceutical composition having serotonin-antagonistic activity.
- 20 8. A process for the manufacture of a dry extract from the leaves of hypericum perforatum L. comprising extracting a fresh or mildly dried drug of St. John's wort with aqueous ethanol and recovering from the thus obtained liquid extract a dry extract in a per se known manner, characterized in that polyvinylpyrrolidone or activated charcoal is added to and stirred with said liquid extract, subsequently filtered, and the resulting solution is evaporated to dryness and, optionally, post-dried.
- 25 9. The process of claim 8, characterized in that 30 to 200% polyvinylpyrrolidone, based upon the mass of said dry extract, are added to said liquid extract.
- 30 10. The process of claim 8, characterized in that 5 to 50% activated charcoal, based upon the mass of said dry extract, are added to said liquid extract.
- 35 11. A process for the manufacture of a dry extract from the leaves of hypericum perforatum L. comprising extracting a fresh or mildly dried drug of St. John's wort with aqueous ethanol and evaporating the obtained liquid extract (primary extract) to dryness by means of evaporating the solvent under reduced pressure, characterized in that said primary extract is dissolved in a mixture of dioxane and water and that the thus obtained solution is separated into two fractions by column chromatography using dioxane/water as an eluent, that thereafter the fraction first recovered which has a reduced total content of hypericin, is evaporated to dryness and, optionally, post-dried.
- 40 12. The process of claim 11, characterized in that said primary extract is dissolved in a mixture of 7 parts by volume of dioxane and 3 parts by volume of water.
13. The process of claim 11 or 12, characterized in that a mixture of 7 parts by volume of dioxane and 3 parts by volume of water is used as said eluent for the separation by means of column chromatography.
- 45 14. The process of any one of claims 11 to 13, characterized in that said separation by means of column chromatography is conducted as a gel chromatography.
- 50 15. A process for the manufacture of a dry extract from the leaves of hypericum perforatum L. comprising extracting a fresh or mildly dried drug of St. John's wort with aqueous ethanol, characterized in that the thus obtained liquid extract (primary extract) is partitioned between n-butanol and water, said n-butanol phase is then evaporated to dryness and, subsequently, is fractioned by means of gel chromatography.
16. The process of any one of claims 8 to 15, characterized in that said drug is extracted with ethanol having a concentration of 50 to 96% by weight.

#### Revendications

1. Extrait sec de la plante herbacée de Hypericum perforatum L. (millepertuis), caractérisé par une teneur en hyperi-



cine totale, abaissée par rapport à la teneur en hypericine totale de la drogue utilisée comme matière première, de moins de 0,1 % en poids et par une teneur en hyperforine totale, accrue par rapport à la teneur en hyperforine totale de la drogue utilisée comme matière première, d'au moins 5 % en poids.

- 5 2. Extrait sec selon la revendication 1, caractérisé par une teneur en hypericine totale de moins de 0,03 % en poids.
3. Extrait sec selon la revendication 2, caractérisé par le fait qu'il est exempt d'hypericine.
- 10 4. Extrait sec selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisé par une teneur en hyperforine totale d'au moins 10 % en poids.
5. Médicament à activité psychovégétative et anti-dépressive, contenant un extrait sec selon l'une des revendications 1 à 4, éventuellement conjointement avec des adjuvants et additifs pharmacologiquement acceptables classiques.
- 15 6. Utilisation de l'extrait sec selon l'une des revendications 1 à 4 pour la préparation d'un médicament à activité psychovégétative et anti-dépressive.
- 20 7. Utilisation de l'extrait sec selon l'une des revendications 1 à 4, éventuellement conjointement avec des adjuvants et des additifs pharmacologiquement acceptables classiques, pour la préparation d'un médicament ayant une activité d'antagoniste de la sérotonine.
- 25 8. Procédé pour la préparation d'un extrait sec de la plante herbacée de Hypericum perforatum L., dans lequel une drogue de millepertuis fraîche ou séchée avec ménagement est extraite avec de l'éthanol aqueux et un extrait sec est obtenu de manière connue en soi à partir de l'extrait liquide ainsi obtenu, caractérisé par le fait qu'on ajoute, à l'extrait liquide, de la polyvinylpyrrolidone ou du charbon actif et on agite, ensuite on filtre et on concentre jusqu'à siccité la solution obtenue et on procède éventuellement à un séchage final.
- 30 9. Procédé selon la revendication 8, caractérisé par le fait qu'on ajoute à l'extrait liquide 30 à 200 % de polyvinylpyrrolidone, par rapport à la masse de l'extrait sec.
10. Procédé selon la revendication 8, caractérisé par le fait qu'on ajoute à l'extrait liquide 5 à 50 % de charbon actif, par rapport à la masse de l'extrait sec.
- 35 11. Procédé pour la préparation d'un extrait sec de la plante herbacée de Hypericum perforatum L., dans lequel une drogue de millepertuis fraîche ou séchée avec ménagement est extraite avec de l'éthanol aqueux et l'extrait liquide obtenu (extrait primaire) est concentré jusqu'à siccité par élimination du solvant sous pression réduite, caractérisé par le fait que l'extrait primaire est dissous dans un mélange dioxanne-eau, et la solution ainsi obtenue est séparée en deux fractions par chromatographie sur colonne avec utilisation de dioxanne/eau comme éluant, après quoi la fraction recueillie en premier, qui présente une teneur en hypericine totale abaissée, est concentrée jusqu'à siccité et éventuellement soumise à un séchage final.
- 40 12. Procédé selon la revendication 11, caractérisé par le fait que l'extrait primaire est dissous dans un mélange de 7 parties en volume de dioxanne et 3 parties en volume d'eau.
- 45 13. Procédé selon la revendication 11 ou 12, caractérisé par le fait qu'on utilise comme éluant, pour la séparation par chromatographie sur colonne, un mélange de 7 parties en volume de dioxanne et 3 parties en volume d'eau.
- 50 14. Procédé selon l'une des revendications 11 à 13, caractérisé par le fait qu'on effectue la séparation par chromatographie sur colonne sous forme de chromatographie sur gel.
- 55 15. Procédé pour la préparation d'un extrait sec de la plante herbacée de Hypericum perforatum L., dans lequel une drogue de millepertuis fraîche ou séchée avec ménagement est extraite avec de l'éthanol aqueux, caractérisé par le fait que l'extrait liquide ainsi obtenu (extrait primaire) est réparti entre du n-butanol et de l'eau, après quoi la phase de n-butanol est concentrée jusqu'à siccité et ensuite fractionnée par chromatographie sur gel.
16. Procédé selon l'une des revendications 8 à 15, caractérisé par le fait que la drogue est extraite avec de l'éthanol à 50 à 96 % en poids.



Europäisches  
Patentamt

# EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung

-2-

EP 93118997.1

| EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE   |  |   | KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int. Cl.) |
|--|--|---|---|
| Kategorie  | Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile  | Betrifft Anspruch                         |   |
| A  | <p>Columbus, Ohio, USA<br/>GEORGIEV, E. et al.: " Effect of solvent and moisture of St.-John's-wort on extraction of some biologically active substances. II. Extraction of hypericin with glycol. "<br/>Seite 369, Zusammenfassung-<br/>-Nr. 29 872h<br/>&amp; Nauchni Tr. - Vissh Inst. Khranit. Vkusova Prom-st., Plovdiv 1985, 32(1), 257-63.</p> <p>---<br/>CHEMICAL ABSTRACTS, Band 101, Nr. 22, 26. November 1984, Columbus, Ohio, USA<br/>GEORGIEV, E. et al.: "Extraction of Hypericum perforatum L. "<br/>Seite 362, Zusammenfassung-<br/>-Nr. 197 996n<br/>&amp; Nauchni Tr. - Vissh Inst. Khranit. Vkusova Prom-st., Plovdiv 1983, 30(2), 175-83.</p> <p>-----</p> | 9-16                                      |   |
| Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt.   |  |   | RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int. Cl.)    |
| Recherchenort<br>WIEN  |  | Abschlußdatum der Recherche<br>24-02-1994 | Prüfer<br>SCHNASS                       |
| <p>KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTEN</p> <p>X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet<br/>Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie<br/>A : technologischer Hintergrund<br/>O : nichtschriftliche Offenbarung<br/>P : Zwischenliteratur<br/>T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze</p> <p>E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist<br/>D : in der Anmeldung angeführtes Dokument<br/>L : aus andern Gründen angeführtes Dokument</p> <p>&amp; : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument</p> |  |   |   |

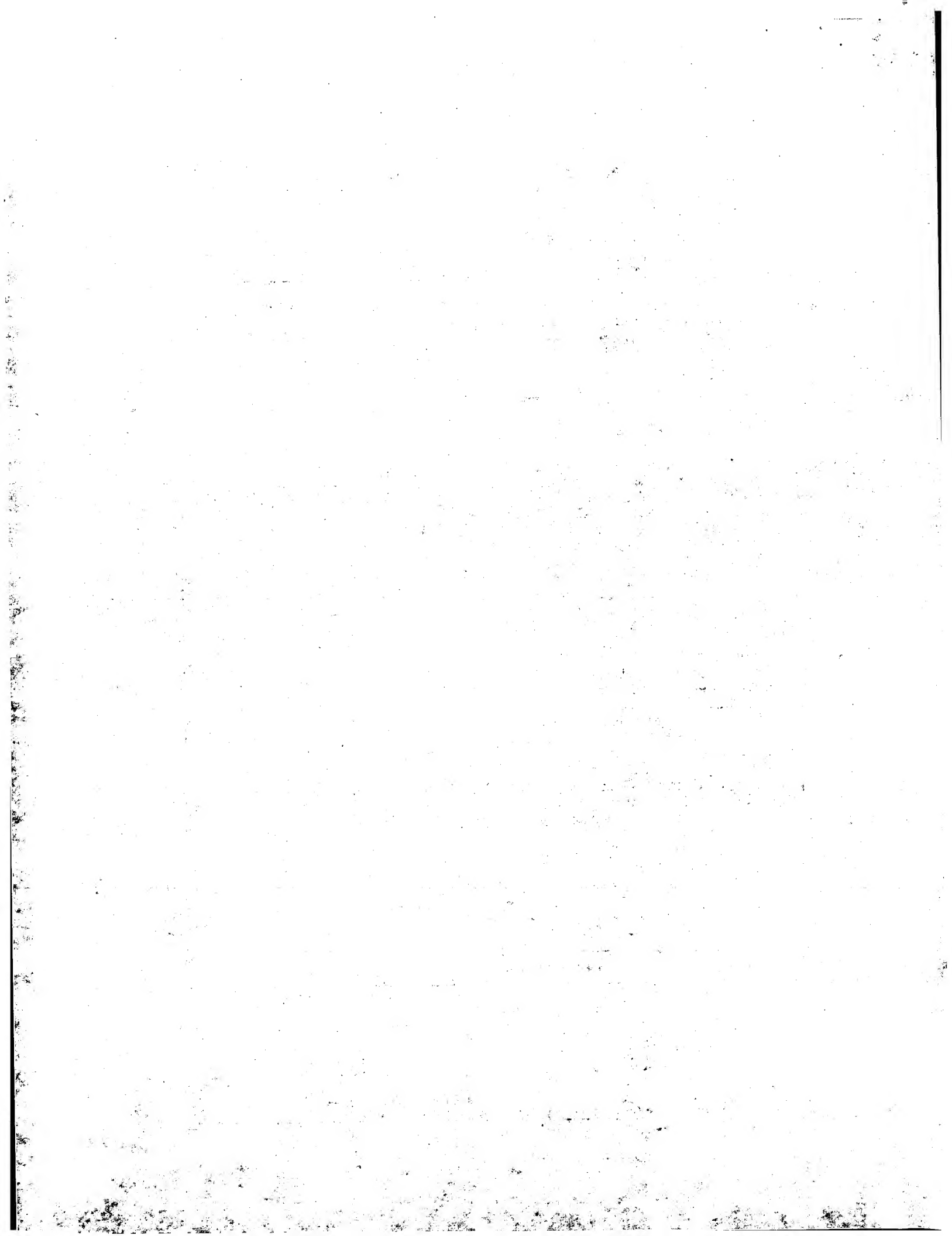


Europäisches  
Patentamt

# EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung

| EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE  |   |   | EP 93118997.1                            |                                    |   |  |   |   |   |                                 |  |                                   |  |                       |  |  |   |
|---|---|---|--|------------------------------------|---|--|---|---|---|---------------------------------|--|-----------------------------------|--|-----------------------|--|--|---|
| Kategorie   | Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile   | Betrifft Anspruch                         | KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int. Cl.') |                                    |   |  |   |   |   |                                 |  |                                   |  |                       |  |  |   |
| A   | <u>DE - A - 3 935 772</u><br>(STEIGERWALD ARZNEIMITTELWERK GMBH)<br>* Gesamt *<br>--  | 1-16                                      | A 61 K 35/78                             |                                    |   |  |   |   |   |                                 |  |                                   |  |                       |  |  |   |
| D, A  | <u>DE - A - 1 569 849</u><br>(STEIGERWALD ARZNEIMITTEL GMBH)<br>* Gesamt *<br>--  | 1-16                                      |  |                                    |   |  |   |   |   |                                 |  |                                   |  |                       |  |  |   |
| A   | CHEMICAL ABSTRACTS, Band 107, Nr. 22, 30. November 1987, Columbus, Ohio, USA<br>STOYANOVA, A. et al. "Thin-layer chromatography of extracts of Hypericum perforatum"<br>Seite 461, Zusammenfassung-Nr. 205 272q<br>& Farmatsiya (Sofia) 1987, (1), 8-13.<br>--  | 9-16                                      |  |                                    |   |  |   |   |   |                                 |  |                                   |  |                       |  |  |   |
| A   | CHEMICAL ABSTRACTS, Band 105, Nr. 4, 28. Juli 1986, Columbus, Ohio, USA<br>GEORGIEV, E. et al.: "Effect of solvent and moisture of St.-John's-wort on extraction of some biologically active substances. I. Extraction of hypericin with glycerides and ethyl alcohol."<br>Seite 369, Zusammenfassung-Nr. 29 871g<br>& Nauchni Tr. - Vissh Inst. Khranit. Vkusova Prom-st., Plovdiv 1985, 32(1), 251-6.<br>-- | 9-16                                      | RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int. Cl.')    |                                    |   |  |   |   |   |                                 |  |                                   |  |                       |  |  |   |
| A   | CHEMICAL ABSTRACTS, Band 105, Nr. 4, 28. Juli 1986,   | 9-16                                      | A 61 K                                   |                                    |   |  |   |   |   |                                 |  |                                   |  |                       |  |  |   |
| Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt.  |   |   |  |                                    |   |  |   |   |   |                                 |  |                                   |  |                       |  |  |   |
| Recherchenort<br>WIEN   |   | Abschlußdatum der Recherche<br>24-02-1994 | Prüfer<br>SCHNASS                        |                                    |   |  |   |   |   |                                 |  |                                   |  |                       |  |  |   |
| <table border="0"><tr><td>KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTEN</td><td>E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist</td></tr><tr><td>X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet</td><td>D : in der Anmeldung angeführtes Dokument</td></tr><tr><td>Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie</td><td>L : aus andern Gründen angeführtes Dokument</td></tr><tr><td>A : technologischer Hintergrund</td><td></td></tr><tr><td>O : nichtschriftliche Offenbarung</td><td></td></tr><tr><td>P : Zwischenliteratur</td><td></td></tr><tr><td>T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze</td><td>&amp; : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument</td></tr></table> |   |   |  | KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTEN | E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist | X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet | D : in der Anmeldung angeführtes Dokument | Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie | L : aus andern Gründen angeführtes Dokument | A : technologischer Hintergrund |  | O : nichtschriftliche Offenbarung |  | P : Zwischenliteratur |  | T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze | & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument |
| KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTEN  | E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist   |   |  |                                    |   |  |   |   |   |                                 |  |                                   |  |                       |  |  |   |
| X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet  | D : in der Anmeldung angeführtes Dokument   |   |  |                                    |   |  |   |   |   |                                 |  |                                   |  |                       |  |  |   |
| Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie   | L : aus andern Gründen angeführtes Dokument   |   |  |                                    |   |  |   |   |   |                                 |  |                                   |  |                       |  |  |   |
| A : technologischer Hintergrund   |   |   |  |                                    |   |  |   |   |   |                                 |  |                                   |  |                       |  |  |   |
| O : nichtschriftliche Offenbarung   |   |   |  |                                    |   |  |   |   |   |                                 |  |                                   |  |                       |  |  |   |
| P : Zwischenliteratur   |   |   |  |                                    |   |  |   |   |   |                                 |  |                                   |  |                       |  |  |   |
| T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze  | & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument   |   |  |                                    |   |  |   |   |   |                                 |  |                                   |  |                       |  |  |   |



EP 0599 307

engl. Translation

PATENTS ACT - 1977

IN THE MATTER OF a European  
Patent (UK) in the name of  
Dr. Willmar Schwabe GmbH & Co.

I, Colette Elizabeth Jagg BA DipTST MIL, of 39 Hanson Close, Beckenham,  
Kent BR3 1WJ, translator to Marks & Clerk, 57-60 Lincoln's Inn Fields, London  
WC2A 3LS, fully conversant with the English and German languages,  
hereby certify that to the best of my knowledge and belief the following is  
a true translation into the English language, which has been partially made  
and partially compared by me, of the specification of  
European Patent No. 0599307  
Application No. 93118997.1

Signed, this 16th day of October 1998

C. E. Jagg

European Patent Application No. 93118997.1

European Patent No. 0599307

The invention relates to a dry extract from the leaves of Hypericum perforatum L. (St. John's wort), in which the strongly photosensitising compounds of the naphthodianthrone type have been selectively depleted or entirely eliminated. The invention also relates to processes for the preparation of the dry extract and its use as a pharmaceutical composition.

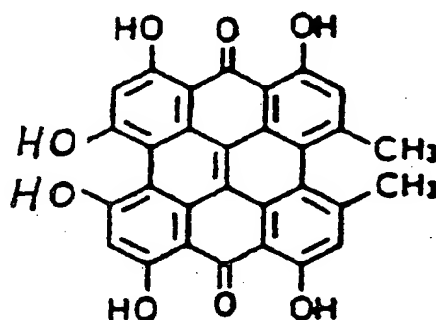
St. John's wort has long been used as a medicinal drug. More recently, the drug has also been used as a sedative and an anxiolytic and for the treatment of depression. Aqueous-ethanolic extracts of St. John's wort and oily preparations are ordinarily used therapeutically.

The following constituents or groups of constituents have previously been isolated from St. John's wort: essential oils (0.1% - 0.3%), catechin tanning agents (approx. 10%), flavones and xanthones (2% - 4%), naphthodianthrone (hypericines) (0.1%) and vegetable acids. In addition, the fresh plant and rapidly and mildly dried St. John's wort contain hyperforin (1.0% - 1.4%) and, to a lesser extent, adhyperforin. Hyperforin has marked antibiotic properties and appears to contribute towards the sedating effect of St. John's wort (cf. P. Maisenbacher, "Untersuchungen zur Analytik von Johanniskrautöl", Dissertation Universität

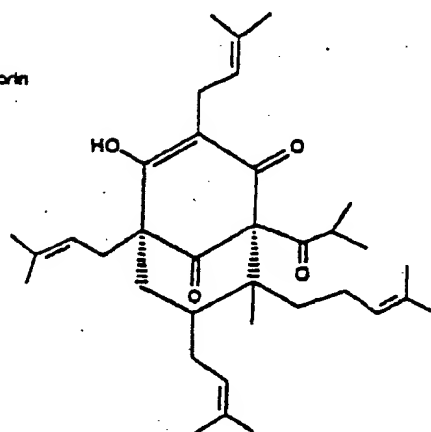
Tübingen 1991). However, the occurrence of anthraquinones in St. John's wort has not been demonstrated.

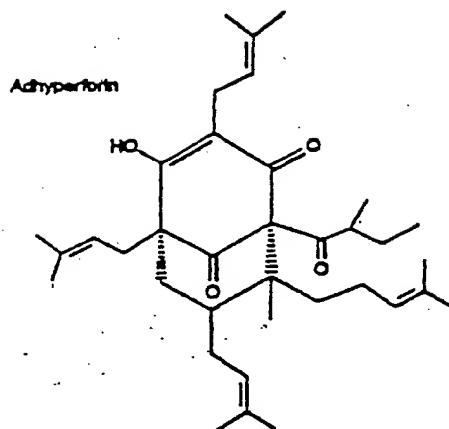
Hypericin, hyperforin and adhyperforin have the following structural formulae:

### Hypericin



Hyperforin





The Federal public health office is writing a positive monograph "Hyperici herba" which, in addition to mentioning the sedative, anxiolytic and anti-depressive indications, also makes express reference to the side-effect of photosensitisation caused by St. John's wort. Hitherto, this has chiefly been described in grazing animals (e.g. cattle, sheep, horses), in which the side-effect is frequently fatal. Individual cases, although not fatal, have also been described in humans (Hausen, B., Allergiepflanzen - Pflanzenallergene, Handbuch und Atlas der allergieinduzierenden Wild- und Kulturpflanzen, ecomed, Landsberg-München 1988).

For decades, hypericin and its derivatives were regarded as the principal agent in *Hypericum perforatum*. Consequently, considerable effort was made to produce pure hypericin from *Hypericum perforatum* (C. Czerny, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 73, 371 (1911)); (H. Brockmann, M.N. Haschad, K. Maier and F. Pohl, Naturwissenschaften 27, 550 (1939)); (N. Pace and G. Machinney, J. Am. Chem. Soc. 63, 2570 (1941)). In 1950-51,



Brockmann's team succeeding in definitively proving the structure of hypericin and achieved its total synthesis.

The preparation of concentrated extracts has also been carried out with the aim of concentrating the hypericin (DE patent spec. 1 569 849).

Niesel and Schilcher describe methods of concentrating extracts of *Hypericum perforatum* with the aim of obtaining a high proportion of hypericin (Arch. Pharm. 323, 755 (1990)).

In accordance with these scientific results, Board E of the Federal public health office has drawn up a monograph (Bundesanzeiger no. 228 of 5.12.84) in which the total amount of hypericin (hypericin and pseudohypericin), namely 0.2 mg to 1 mg, is taken as the basis for determining the daily dose for preparations of *Hypericum*. This differs from comparable monographs in which, as a rule, only the amount of drug is used as the basis for the amount of preparation to be used. This shows that, in the areas of application of psychovegetative disorders, depression, anxiety and nervousness, the constituent hypericin was considered to be the sole cause of the effectiveness of hypericum-containing preparations. This is also confirmed in more recent literature (R. Hänsel, *Phytopharmaka*, Springer Verlag, p. 260); (S. Niesel, H. Schilcher, Arch. Pharm. 323, 755 (1990)); (*Hypericum perforatum* collected works, M. Wichtl, 1983, p. 8).

The object of the invention is to prepare a dry extract from St. John's wort which contains as little hypericin or similar photosensitising compounds as possible, but which nevertheless has the effectiveness hitherto ascribed to hypericin, and to provide processes for its preparation which can be carried out as simply as possible without requiring a lot of apparatus and

by means of which it is possible to deplete hypericins very considerably, but to concentrate in the same extract desirable constituents such as hyperforin and adhyperforin which have no photosensitising potential.

According to the invention, this object is achieved by the dry extract according to any one of claims 1 to 4, the processes according to claims 8 to 16 and the use of the extract as a pharmaceutical composition.

The invention is based on the surprising discovery that a hypericin-free or low-hypericin extract of *Hypericum perforatum*, simultaneously enriched with total hyperforin (hyperforin and adhyperforin), can be prepared both from an alcoholic primary extract solution by simply stirring with polyvinylpyrrolidone or activated carbon, and by column chromatography without a special separation requirement if a mixture of dioxan and water is used as an eluent.

The extracts prepared according to the invention and the pharmaceutical preparations obtained therefrom have the great advantage of being free of the side-effects described for hypericin, but at the same time being fully effective as psychovegetative drugs and anti-depressants, this effectiveness evidently mistakenly having been attributed to hypericin until now.

While commercial preparations contain extracts with a content of 0.12% to 0.64% total hypericin (data taken from the 1992 *Rote Liste* [official German pharmacopoeia], preferred embodiments of the dry extract according to the invention are characterised by a total hypericin content of less than 0.1% by weight, preferably less than 0.03% by weight

or zero, and by an increased total hyperforin content which, depending on the starting drug, is at least 5%, preferably at least 10% by weight.

The dry extract according to the invention is preferably used for the preparation of psychovegetatively and antidepressively effective pharmaceutical compositions which can be used both in human medicine and in veterinary medicine. Therefore, the invention also relates to psychovegetatively and antidepressively effective pharmaceutical compositions containing a dry extract according to the invention, optionally together with conventional, pharmacologically compatible auxiliary agents and additives. These pharmaceutical compositions can be in the form of tablets, dragées, hard and soft gelatin capsules, in dissolved form as drops, etc.

Surprisingly, it has been found that extracts according to the invention with a particularly high concentration of hyperforin and adhyperforin have strong serotonin-antagonistic activity. Extracts according to the invention with a high total hyperforin content are therefore used, particularly advantageously, as a pharmaceutical composition having serotonin-antagonistic activity, optionally together with conventional, pharmacologically compatible auxiliary agents and additives.

In a preferred embodiment of the process according to the invention for the preparation of the dry extract, an alcoholic or aqueous-alcoholic total extract (primary extract) of a fresh or mildly dried drug of St. John's wort is mixed with polyvinylpyrrolidone (PVP) or activated carbon directly after filtering off the drug residue without intermediate drying, is stirred and then separated off from the PVP or activated carbon by filtration and dried. Surprisingly, it has been shown that the hypericins are very

strongly adsorbed on PVP or activated carbon. Preferably, 30% to 200% PVP or 5% to 50% activated carbon is added to the liquid primary extract, in each case relative to the mass of the dry extract.

In another preferred embodiment of the process according to the invention for the preparation of the dry extract, an aqueous-ethanolic total extract (primary extract) of St. John's wort drug is dissolved in a dioxan/water mixture, preferably in a volume ratio of 7:3, and fractionated by gel chromatography over commercial polysaccharide as a supporting material, e.g. over Sephadex LH-20. Surprisingly, it has been shown that the hypericins are the last substances to be eluted from the column when using dioxan/water as an eluent, also preferably in a volume ratio of 7:3. The eluate is collected, unfractionated, until the elution of the violet to crimson zones commences. This naphthodianthrone fraction is collected and discarded separately, while the previously collected eluate is evaporated to dryness and, optionally, post-dried.

In a further preferred embodiment of the process according to the invention, an aqueous-ethanolic total extract of St. John's wort is initially apportioned between n-butanol and water. The n-butanol phase is evaporated to dryness and contains 35% to 40% of the total extract used. The water phase contains 60% to 65% of the total extract used, which contains the following:

|             |                    |
|-------------|--------------------|
| 0.5 % - 1 % | hyperoside         |
| < 0.01 %    | quercetin          |
| < 0.01 %    | I3, II8 biapigenin |
| < 0.01 %    | amentoflavone      |
| < 0.02 %    | hypericin          |
| < 0.02 %    | pseudohypericin    |

The dried n-butanol phase is then fractionated further by gel chromatography, as described above.

In all the variations of the process according to the invention, the primary extract is preferably obtained by extraction of the drug with ethanol in a concentration of 50% to 96% (% by weight).

#### Example 1

1 kg mildly dried and coarsely powdered St. John's wort is mixed with 7kg ethanol in a concentration of 96% and stirred vigorously for one hour at 55°C. Suction then takes place via a filter, and the drug residue is extracted a second time in the same manner. The two extract solutions are combined, and the dry residue is determined using an aliquot. A dry residue of 23% is produced, corresponding to a yield of 231g dry extract from 1 kg drug. The total hypericin content in this extract is 0.41%, and the hyperforin content is 6.3%. 115g polyvinylpyrrolidone (PVP : dry extract = 1 : 2) is added to the extract solution and the mixture is stirred at room temperature for one hour. Suction then takes place via a filter, and the obtained extract solution is evaporated to dryness at 55°C under reduced pressure. Post-drying then takes place at 45°C in a vacuum,

resulting in 189g dry extract. In this extract, the total hypericin content is below 0.015%, and the total hyperforin content is 8.7%.

#### Example 2

1 kg mildly dried and coarsely powdered St. John's wort is mixed with 7kg ethanol in a concentration of 60% and stirred vigorously for one hour at 55°C. Suction then takes place via a filter, and the drug residue is extracted a second time in the same manner. The two extract solutions are combined, and the dry residue is determined using an aliquot. A dry residue of 35% is produced, corresponding to a yield of 355g dry extract from 1 kg drug, with a total hypericin content of 0.13%. 35g activated carbon is added to the extract solution and the mixture is stirred at room temperature for one hour. Filtering then takes place again, and the solution is brought to dryness in the same manner as described in example 1, resulting in 337g dry extract with a total hypericin content below 0.015%.

#### Example 3

2 kg mildly dried and powdered St. John's wort is mixed with 20 kg ethanol in a concentration of 60% (% by weight) and stirred vigorously for one hour at 60°C. Suction then takes place via a filter, and the drug residue is again treated in the same manner. The two extracts are combined and evaporated to dryness at 60°C under reduced pressure. Post-drying then takes place at 45°C, resulting in 732.4g dry extract.

One part by weight of this dry extract is dissolved in four parts by volume dioxan/water 7:3 (vol./vol.) while being gently heated. This solution is

applied to a chromatography column filled with Sephadex LH-20 and with dioxan/water 7:3 (vol./vol.). The ratio of starting extract to supporting material is 1:13. The eluent is dioxan/water 7:3 (vol./vol.). The mixture is eluted and collected, unfractionated, until zones of the column elute which, after separation in the thin-layer chromatogram using Flavognost reagent, are coloured blue or green in daylight (hypericin derivatives). The latter zones are collected separately. Two fractions are thus obtained:- fraction 1: 97.2% of the extract used, and fraction 2: 0.5% of the extract used. Whereas fraction 2, which contains the hypericin derivatives, is discarded, the low-hypericin or even hypericin-free fraction 1 is evaporated to dryness and, optionally, post-dried. The resulting dry substance represents the dry extract according to the invention with a reduced total hypericin content.

The effect of a commercial extract with a total hypericin content of 0.17% (extract A) was compared with the low-hypericin extract (extract B) prepared according to example 1. The latter contains total hypericin in an amount close to the analytical detection limit, i.e. below 0.015% by weight.

To demonstrate the effectiveness of the extract prepared according to the invention, its serotonin-receptor-antagonistic effect was tested on the model of the 5-HT<sub>3</sub> receptor.

The presence and the physiological and pathological importance of these serotonin receptors was first postulated in 1985 by Richardson et al (Nature, vol. 316, 126-131) and since that time numerous 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonists have been developed, e.g. ICS 205-930, MDL 72222, Odansetron, GR 65 630, Granisetron, etc. These 5-HT<sub>3</sub> receptor

antagonists also have, inter alia, the effects known from the St. John's wort preparations in combatting psychovegetative disorders, depression, anxiety and nervousness, etc. It was therefore obvious that, in addition to the known monoamine oxidase-inhibiting effects, the antagonistic effect of the St. John's wort constituents against 5-HT<sub>3</sub> receptor-mediated processes is also responsible for the effectiveness of the extracts of this medicinal plant.

Male mice (NMRI) with a body weight between 20g and 30g were used as test animals. A method described by Saxena R.R. and Lawang A. was used (Arch. Int. Pharmacodyn., 277, 235-252, 1985). The effect of a known HT<sub>3</sub> receptor antagonist (Cisapride) and the extracts A and B on serotonin-induced (0.25 mg/kg i.v.) bradycardia in anaesthetised animals was determined. The test substances were always applied 30 mins. before the serotonin dose i.p.

The test results obtained are summarised in the following table:

| Test substance       | Dose | % Inhibition of the serotonin-induced bradycardia |
|----------------------|------|---|
| Extract A            | 500  | 61  |
| (commercial extract) | 300  | 10  |
| Extract B            | 500  | 81  |
| (acc. to example 1)  | 100  | 70  |
|                      | 30   | 0   |
| Cisapride            | 5    | 80  |
| (comparison)         |      |   |



The test results show that the extract prepared according to the invention is not only low in hypericin and has 5-HT<sub>3</sub> antagonistic effects, but is also enriched in the active components of the medicinal plant (e.g. hyperforin) which are responsible for the 5-HT<sub>3</sub> receptor-antagonistic effect. Although the comparative extract A contains more than 10 times the amount of hypericin, its potency is at least 5 times weaker than that of the extract B prepared according to the invention.

The finding that the St. John's wort constituents antagonise the 5-HT<sub>3</sub> receptor functions opens up a series of new therapeutic applications for the preparations of this medicinal plant in the treatment of various disorders not necessarily linked with depressive states, etc. These disorders include migraine, vomiting and other gastro-intestinal disturbances.

Claims

1. A dry extract from the leaves of Hypericum perforatum L. (St. John's wort), characterised by a total hypericin content of less than 0.1% by weight, being reduced in relation to the total hypericin content of the drug used as a starting material, and a total hyperforin content of at least 5% by weight, being increased in relation to the total hyperforin content of the drug used as a starting material.
2. A dry extract according to claim 1, characterised by a total hypericin content of less than 0.03% by weight.
3. A dry extract according to claim 2, characterised in that it is free of hypericin.
4. A dry extract according to any one of claims 1 to 3, characterised by a total hyperforin content of at least 10% by weight.
5. A pharmaceutical composition being psychovegetatively and antidepressively effective containing a dry extract according to any one of claims 1 to 4, optionally together with conventional, pharmacologically compatible auxiliary agents and additives.
6. Use of the dry extract according to any one of claims 1 to 4 for the preparation of psychovegetatively and antidepressively effective pharmaceutical compositions.

7. Use of the dry extract according to any one of claims 1 to 4, optionally together with conventional, pharmacologically compatible auxiliary agents and additives, for the preparation of a pharmaceutical composition having serotonin-antagonistic activity.
8. A process for the preparation of a dry extract from the leaves of Hypericum perforatum L., wherein a fresh or mildly dried drug of St. John's wort is extracted with aqueous ethanol, and a dry extract is recovered from the thus obtained liquid extract in a manner known per se, characterised in that polyvinylpyrrolidone or activated carbon is added to the liquid extract and stirred, filtering then takes place and the resulting solution is evaporated to dryness and, optionally, post-dried.
9. A process according to claim 8, characterised in that 30% to 200% polyvinylpyrrolidone, relative to the mass of the dry extract, is added to the liquid extract.
10. A process according to claim 8, characterised in that 5% to 50% activated carbon, relative to the mass of the dry extract, is added to the liquid extract.
11. A process for the preparation of a dry extract from the leaves of Hypericum perforatum L., wherein a fresh or mildly dried drug of St. John's wort is extracted with aqueous ethanol, and the obtained liquid extract (primary extract) is evaporated to dryness by drawing off the solvent under reduced pressure, characterised in that the primary extract is dissolved in a mixture of dioxan and

water and the thus obtained solution is separated into two fractions by column chromatography using dioxan/water as an eluent, after which the fraction first collected, which has a reduced total hypericin content, is evaporated to dryness and, optionally, post-dried.

12. A process according to claim 11, characterised in that the primary extract is dissolved in a mixture of 7 parts by volume dioxan and 3 parts by volume water.
13. A process according to claim 11 or 12, characterised in that a mixture of 7 parts by volume dioxan and 3 parts by volume water is used as an eluent for separation by column chromatography.
14. A process according to any one of claims 11 to 13, characterised in that separation by column chromatography is carried out as gel chromatography.
15. A process for the preparation of a dry extract from the leaves of Hypericum perforatum L., wherein a fresh or mildly dried drug of St. John's wort is extracted with aqueous ethanol, characterised in that the thus obtained liquid extract (primary extract) is apportioned between n-butanol and water, the n-butanol phase is then evaporated to dryness and, subsequently, is fractionated by gel chromatography.
16. A process according to any one of claims 8 to 15, characterised in that the drug is extracted with ethanol in a concentration of 50% to 96% by weight.

- For more records, click the Records link at page end.
- To change the format of selected records, select format and click **Display Selected**.
- To print/save clean copies of selected records from browser click **Print/Save Selected**.
- To have records sent as hardcopy or via email, click **Send Results**.

☒ **Select All**

☒ **Clear Selections**

☐ **Print/Save Selected**

☐ **Send Results**

☐ **Display Selected**

**Format**  
☐ **Full**

1. 1/19/1 DIALOG(R)File 351:Derwent WPI (c) 2004 Thomson Derwent. All rts. reserv.

009889715

WPI Acc No: 1994-169631/199421

XRAM Acc No: C94-077554

**Hypericum perforatum extract - has low hypericin and high hyperforin content, used as psycho-vegetative, antidepressant and serotonin antagonistic agent**

Patent Assignee: SCHWABE GMBH & CO WILLMAR (SCHW-N)

Inventor: CHATTERJEE S S; ERDELMEIER C; STUMPF H

Number of Countries: 009 Number of Patents: 005

Patent Family:

| Patent No   | Kind | Date     | Applicat No | Kind | Date     | Week     |
|-------------|------|----------|-------------|------|----------|----------|
| EP 599307   | A1   | 19940601 | EP 93118997 | A    | 19931125 | 199421 B |
| DE 4239959  | A1   | 19940601 | DE 4239959  | A    | 19921127 | 199423   |
| EP 599307   | B1   | 19980826 | EP 93118997 | A    | 19931125 | 199838   |
| DE 59308924 | G    | 19981001 | DE 508924   | A    | 19931125 | 199845   |
|             |      |          | EP 93118997 | A    | 19931125 |          |
| ES 2121918  | T3   | 19981216 | EP 93118997 | A    | 19931125 | 199906   |

Priority Applications (No Type Date): DE 4239959 A 19921127

Cited Patents: 08Jnl.Ref; DE 1569849; DE 3935772

Patent Details:

Patent No Kind Lan Pg Main IPC Filing Notes

EP 599307 A1 G 9 A61K-035/78

Designated States (Regional): AT CH DE ES FR GB IT LI NL

DE 4239959 A1 4 A61K-035/78

EP 599307 B1 G A61K-035/78

Designated States (Regional): AT CH DE ES FR GB IT LI NL

DE 59308924 G A61K-035/78 Based on patent EP 599307

ES 2121918 T3 A61K-035/78 Based on patent EP 599307

Abstract (Basic): EP 599307 A

Dry extract from *Hypericum perforatum* L. (St. John's wort) has a total hypericin content and a higher total hyperforin content than the material used for its prepn. Total hypericin content (hypericin and pseudo-hypericin) is below 0.1 wt.%, esp. below 0.003 wt.%, partic. 0, while total hyperforin content (hyperforin and adhyperforin) is at least 5 wt.%.

USE/ADVANTAGE - Extract has psycho-vegetative, antidepressant and serotonin antagonistic activity and is used e.g. to treat anxiety, depressive states, nervous agitation, migraine, vomiting and intestinal disorders. Admin. may be in the form of tablets, dragees, capsules drops etc. opt. together with conventional carriers and additives. Extract does not have any photosensitising side effects and can be prepd. easily without the need for special equipment.

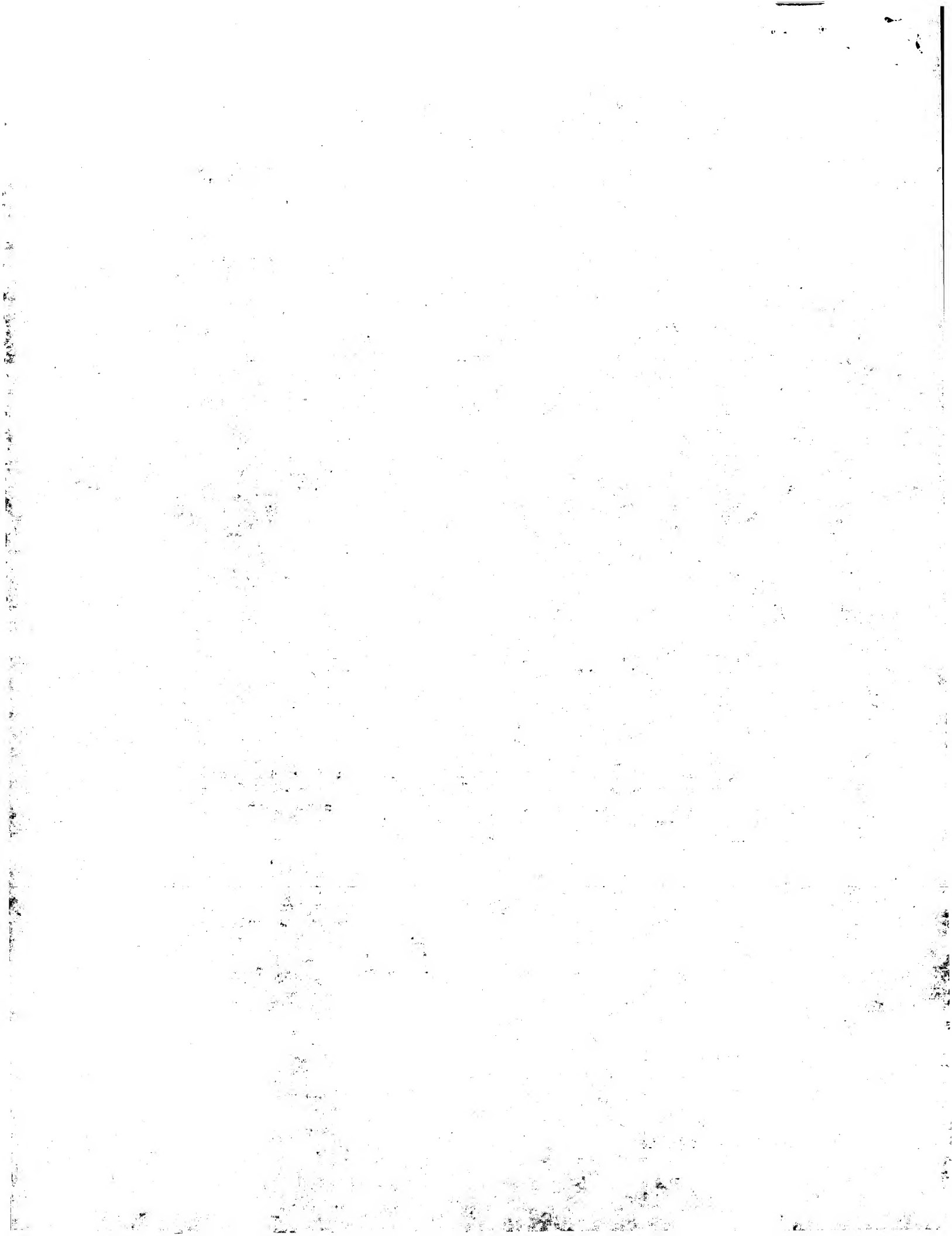
Dwg.0/1

Title Terms: HYPERICUM; EXTRACT; LOW; HIGH; CONTENT; PSYCHO; VEGETATION; ANTIDEPRESSANT; SEROTONIN; ANTAGONIST; AGENT

Derwent Class: B04

International Patent Class (Main): A61K-035/78

International Patent Class (Additional): B01D-015/08



File Segment: CPI

Manual Codes (CPI/A-N): B04-A10; B14-C01; B14-E05; B14-J01A1; B14-J01B4

Chemical Fragment Codes (M1):

\*01\* M423 M710 M903 P411 P443 P446 P448 P451 P617 P714 V400 V406

Derwent WPI (Dialog® File 351): (c) 2004 Thomson Derwent. All rights reserved.

|  |   |                     |              |                  |   |
|--|---|---------------------|--------------|------------------|---|
| <input checked="" type="checkbox"/> Select All | <input type="checkbox"/> Clear Selections | Print/Save Selected | Send Results | Display Selected | Format  |
|  |   |                     |              | Full             |  |

© 2004 Dialog, a Thomson business

